

Über ein Glykogensgrenzdextrin
und ein weiteres Polysaccharid
Endopenicillan A, aus *Penicilliummycel*

Inauguraldissertation

der Naturwissenschaftlichen Fakultät
der Friedrich-Alexander-Universität Erlangen

zur

Erlangung des Doktorgrades

vorgelegt von

Erika Eckart

aus Nürnberg

Berlin 1957

Als Dissertation genehmigt
von der Naturwissenschaftlichen Fakultät
der Universität Erlangen

Tag der mündlichen Prüfung: 28. November 1956
Dekan: Universitätsprofessor Dr. Th. Schneider
Berichterstatter: Universitätsprofessor Dr. Dr. F. May
Berichterstatter: Universitätsprofessor Dr. O. Dann



Sonderdruck aus: Hoppe-Seyler's Zeitschrift für Physiologische Chemie,
Band 308, Heft 5/6.

Über ein Glykogengrenzextrin und ein weiteres Polysaccharid Endopenicillan A, aus *Penicilliummycel*

Von

Erika Eckart

Aus dem Physiologisch-Chemischen Institut der Universität Erlangen,
Vorstand: Prof. Dr. Dr. F. May

(Der Schriftleitung zugegangen am 9. April 1957)

Penicilliumarten scheiden in die sie umgebende Nährflüssigkeit neben antibiotisch wirksamen Substanzen offensichtlich noch andere Stoffwechselprodukte aus, wie höhere Alkohole, organische Säuren und Saccharide¹. Zum Aufbau ihrer Stützsubstanzen verwenden sie hauptsächlich Chitin und Cellulose. Neben diesen Zellwandsacchariden finden sich im Zellinneren weitere bisher wenig untersuchte Polysaccharide.

In der vorliegenden Arbeit wurden die wasserlöslichen Polysaccharide des Zellinneren isoliert und Fraktionen gewonnen, von denen eine näher untersucht und im folgenden als „Ausgangspolysaccharid“ bezeichnet wird. Aus dieser Fraktion konnte ein Glykogengrenzextrin und ein zweites Polysaccharid, das „Endopenicillan A“ genannt wird, dargestellt und charakterisiert werden.

Das *Penicilliummycel* wurde in Chloroform konserviert geliefert*. Da die Auslaugung mit Wasser wenig erfolgreich war, wurde mit 20-proz. KOH verkocht und nach Reinigung der Lösungen mit Alkohol gefällt. Die Fällung wurde in Fraktionen aufgeteilt derart, daß die nach Ansäuern mit Alkohol sofort ausfallende Substanz als „Ausgangspolysaccharid“ von den im sauren Alkohol schweben bleibenden Stoffen abgetrennt wurde.

Das „Ausgangspolysaccharid“ stellte nach Reinigung ein weißes lockeres Pulver dar. Es wurde hydrolysiert und darinnen papierchromatographisch Glucose, Galaktose und Mannose nachgewiesen, wobei Glucose die stärkste Fraktion darstellte. Neben den drei Monosacchariden waren noch mindestens drei Oligosaccharidfraktionen (darunter auch Phosphorsäureester) vorhanden.

¹ C. G. Anderson, W. N. Haworth, H. Raistrick u. M. Stacey, *Biochem. J.* **33**, 272 [1939]; W. N. Haworth, H. Raistrick u. M. Stacey, *Biochem. J.* **29**, 2668 [1935]. Zit. nach *Chem. Zbl.* **1936**, II, 304; *Biochem. J.* **31**, 640 [1937]; *Biochem. J.* **29**, 612 [1935]. Zit. nach *Chem. Zbl.* **1935** II, 1019.

* Es wurde uns freundlicherweise von der Firma Bayer, Leverkusen, zur Verfügung gestellt, wofür wir auch an dieser Stelle bestens danken.

An Säureresten konnte sowohl freies als auch an Oligosaccharide gebundenes Phosphat nachgewiesen werden. Uronsäuren waren papierchromatographisch auch bei höheren Konzentrationen nicht nachweisbar.

Bei der Papierelektrophorese des „Ausgangspolysaccharides“ (Abb. 1) zeigt sich eine Aufteilung in die beiden oben genannten Polysaccharide, das Glykogengrenzextrin (α , α) und das Endopenicillan A (α , β). Beide sind gegenüber mitgelaufener Galaktose elektronegativer.

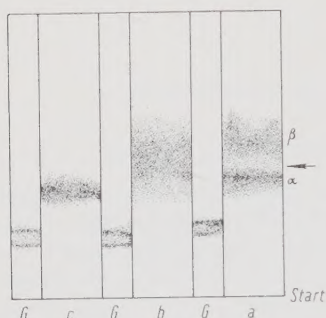


Abb. 1. Elektropherogramm a des „Ausgangspolysaccharides“, b des Endopenicillans A, c des Glykogengrenzextrins.

Start am $\ominus$ Pol; waagerechte Elphor-H.-Kammer auf Papier Schleicher & Schüll 2043 a, Pufferlösung: Veronal-Na, Na-Acetat, Salzsäure pH 9,3, 220 V, 5° C. Färbung der Polysaccharide mit Perjodat*. Färbung der Begleitgalaktose G mit Benzidin. α und β die beiden Polysaccharide, der Pfeil zeigt die aufgetrennte Fläche dazwischen.

* Nach einer von Dr. von Aufseß am Institut entwickelte, noch nicht veröffentlichten Methode.

Daß eine deutlichere Trennung der beiden Polysaccharide im Gemisch unter den vorliegenden Bedingungen nicht zustande kommen kann, zeigen die in Abb. 1, b und 1, c wiedergegebenen Elektropherogramme der beiden getrennten Saccharide, deren Ablagerungsstellen sich gegenseitig etwas überschneiden. Das „Ausgangspolysaccharid“ enthält auf 1,4 Tle. Pilzglykogengrenzextrin 1 Tl. Endopenicillan A. Die präparative Aufteilung in die Einzelkomponenten wird mit Kupferlauge² erreicht, wobei das Glykogengrenzextrin als unlösliche Kupferverbindung abgeschieden wird. Die Kupferverbindung des Leberglykogens, das nur bei Verwendung sehr hoher Konzentrationen der Agenzien ausfällt, ist wasserlöslich. Nach unseren Beobachtungen sinkt die Löslichkeit der Kupferverbindungen der Grenzextrine mit aufsteigendem Gehalt an Phosphorsäure.

Das Endopenicillan A bleibt in der Kupferlauge gelöst und kann mit Alkohol gefällt werden.

Das Pilzglykogengrenzextrin

Es ist ein lockeres, weißes Pulver, das frei von Kupfer ist. In kaltem Wasser löst es sich langsam unter Quellung, mit leichter Opalescenz und neutraler Reaktion. Fehlingsche Lösung wird nicht reduziert. Mit Lugolscher Lösung erhält man eine blaßbraune Färbung, wesentlich heller

² F. May, Z. Biol. **95**, 277 [1934].

als die von Leberglykogen gleicher Konzentration. K. H. Meyer³ beschreibt diese Färbung für Glykogengrenzextrine nach Abbau mit β -Amylase. Von Diastase wird es gespalten, von Hefe vor der Hydrolyse nicht vergoren.

Bei der Elektrophorese erweist es sich als einheitlich aber deutlich elektronegativer als Glykogen, das sich in der elektroneutralen Zone ablagert, siehe Abb. 1 c, hier elektroneutrale Zone durch die Ablagerung der Galaktose charakterisiert. Das elektronegative Verhalten bedingt offensichtlich der hohe Phosphorgehalt, er beträgt 0,81% P gegenüber 0,05% P im Glykogen⁴. Auch das weist auf Grenzextrine hin, da in

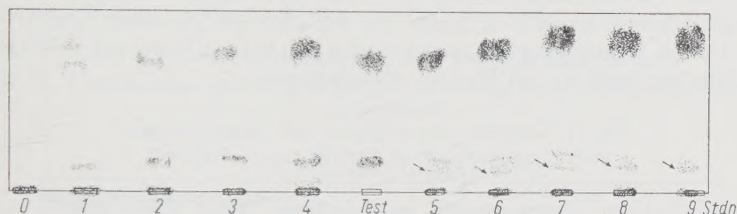


Abb. 2. Papierchromatographische Verfolgung der Hydrolyse des Pilzglykogengrenzextrins mit $n/10$ -HCl von 0–9 Std. Die Pfeile zeigen das zweite Disaccharid an. Test: Glucose, 1-proz., Maltose, 2-proz.

diesen stets Phosphor angereichert gefunden wird⁵. Die schwere Abspaltbarkeit der Phosphorsäure bei Verfolgung der Hydrolyse deutet auf eine C-6-Bindung der Phosphorsäure hin, da Glucose-6-phosphorsäureester nur sehr langsam gespalten werden⁶.

Die spezif. Drehung des Pilzglykogengrenzextrins beträgt $[\alpha]_D: +164^\circ$. Sie liegt also niedriger als die von Glykogen mit $[\alpha]_D: +196^\circ$ und entspricht in ihrer Größe den Grenzextrinen (Amylopektindextrine haben eine Drehung zwischen $+160^\circ$ und $+170^\circ$ ⁷).

Das aus Papierchromatogrammen isolierte Monosaccharid erwies sich durch Identifizierungschromatogramm und Gärung als Glucose.

Bei papierchromatographischer Verfolgung der Hydrolyse mit $n/10$ -HCl erscheint Maltose als Zwischenprodukt (durch Testmaltose gesichert).

Man sieht in Abb. 2, daß neben der ständigen Glucosezunahme zwei Disaccharide in wechselnder Konzentration auftreten. Die Maltoseablagerung erreicht nach etwa 4 Std. ihr Maximum und fällt dann ab,

³ K. H. Meyer, Natural and Synthetic High Polymers, Sec. Edition, S. 481; Interscience Publishers, Inc. New York 1950.

⁴ H. Weinland: Habilitat. Universität Erlangen 1955, S. 105.

⁵ K. Myrbäck u. B. Kihlberg, Biochem. Z. **315**, 250 [1943].

⁶ K. Hinsberg u. K. Lang, Medizinische Chemie 1951, S. 52. Urban & Schwarzenberg München, Berlin.

⁷ Bamann-Myrbäck, Die Methoden der Fermentforschung, Bd. I, S. 202; G. Thieme Verlag, Leipzig 1941.

so daß die Konzentration im Verhältnis zum zweiten Disaccharid nach 9 Stdn. nur noch gering ist. Die Maltosebildung kann außerdem durch Spaltung mit verschiedenen Amylasepräparaten nachgewiesen werden. Die Konzentration des zweiten Disaccharids ist anfangs gering, sie nimmt bei fortschreitender Hydrolyse ständig zu. Man hat den Eindruck, als ob die Abspaltung des zweiten Disaccharides erst nach weitgehender Abspaltung der Maltose erfolgen könnte. Wahrscheinlich ist das zweite Disaccharid Isomaltose, da die für Isomaltose beschriebene Färbung mit Anilindiphenylaminphosphat⁸ speziell bei dieser Fraktion auftritt.

Diese Charakterisierung ist aber noch unsicher, da es sich auch um eine Maltotriose handeln könnte, die auf gleicher R_F -Höhe liegt⁹. Wie Tab. 1 zeigt, liefert Pilzglykogengrenzextrin beim Abbau mit β -Amylase ungefähr nur halb so viel Maltose als Glykogen.

Tab. 1. Vergleich des Abbaues von Leberglykogen und Pilzglykogengrenzextrin mit β -Amylase.

	Zeit	Reduktion ausgedrückt in	
		Glucose	Maltose ¹⁰
Leberglykogen	4 Stdn.	25,5%	33,3%
Pilzglykogen- grenzextrin	4 Stdn.	14,8%	19,4%

Die Molekülgröße wurde nach K. H. Meyer mit 3.5-Dinitrosalicylsäure¹¹ bestimmt, wobei die Originalmethode für 200—2000 γ Maltosereduktion mit gleicher Empfindlichkeit auch für Mengen von 20—200 γ Maltosereduktion abgewandelt wurde. Danach ergibt sich für das Pilzglykogengrenzextrin eine Größe von 69 Glucosen pro Molekül.

Der Grad der Verzweigung wurde nach Potter und Hassid mit Natriummetaperjodat¹² bestimmt. Aus der gemessenen Ameisensäure errechnet sich, daß auf ungefähr 7—8 Glucosen eine Endgruppe trifft, bzw. unter Verwendung des obigen Mol.-Gewichtes, daß im Glykogengrenzextrin 8 nichtreduzierende und eine reduzierende Endgruppe enthalten sind.

Mit K. H. Meyer¹³ könnte man sich vorstellen, daß das vorliegende Molekül entsprechend Abb. 3 mit nur einer Maltose als Seitenkette aufgebaut ist; eine solche Grundeinheit wäre zum Aufbau des verzweigten Glykogenmolekülanteils geeignet, so daß die Aneinander-

⁸ Hoppe-Seyler-Thierfelder, Handbuch der physiologisch u. pathologisch-chemischen Analyse, 10. Auflage 3. Bd., S. 777. Springer-Verlag, Heidelberg 1955.

⁹ K. Täufel u. H. Müller, Z. Lebensmittel-Unters. u. -Forsch. **103**, 272 [1956].

¹⁰ W. Weise u. Th. v. Brand, Biochem. Z. **264**, 357 [1933].

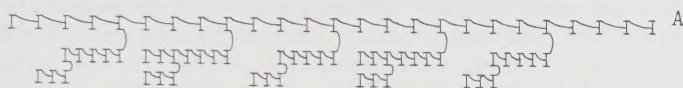
¹¹ K. H. Meyer, Helv. chim. Acta **31**, 103 [1948].

¹² A. L. Potter u. W. Z. Hassid, J. Amer. chem. Soc. **70**, 3488 [1948].

¹³ K. H. Meyer, Naturwissenschaften **29**, 287 [1941].

lagerung dieser Glykogenlimitdextrine diesen Anteil ergeben würden. Nach dem Aufbau des verzweigten Teiles des Glykogenmoleküls können dann die Seitenketten angehängt werden.

Würden die Seitenketten an diesem Spaltstück ergänzt auf 8 Glucosen, wie sie für Hefeglykogen¹⁴ gefunden wurden, so hätte das Molekül eine Größe von 143 Glucosen. Ein Glykogen mit 150 Glucosen ist für die Maissorte „Golden Bantam“ beschrieben¹⁵.



I = Glucopyranoseresest, A = aldehydisches Ende.

Abb. 3. Formelskizze des Pilzglykogenlimitdextrins. Verzweigungen in Verkürzung gezeichnet.

Das Endopenicillan A

Dieses noch nicht beschriebene Polysaccharid enthält Mannose, Galaktose und Glucose; es wurde Endopenicillan A genannt, weil im *Penicillium mycel* intrazellulär enthalten. Das leichte, grüngrau gefärbte Pulver enthält von der Darstellung her noch geringe Spuren Kupfer (0,49% Cu). In Wasser löst es sich ohne vorherige Quellung mit hellgelber Farbe. Die Lösung reagiert schwach sauer, wahrscheinlich wegen des hohen Phosphatgehaltes von 4,26% P. Fehlingsche Lösung ergibt keine Reduktion, bei Zusatz von Lugol zeigt sich keine Färbung.

Mit Pektinase (einem Fermentgemisch aus *Aspergillus*arten) und Mandel-Emulsin wird das Polysaccharid sehr langsam gespalten. Amylase spaltet keinen Zucker ab, die gefundene Glucose ist also ein Bestandteil dieses Polysaccharides und nicht eine Beimengung des Pilzglykogenlimitdextrins. Mit Bäckerhefe ist das Saccharid vor der Hydrolyse nicht vergärbbar.

Bei der Elektrophorese erweist es sich als einheitlich und stark elektronegativ (s. Abb. 1 b). Die spezif. Drehung der aschefreien Substanz beträgt $[\alpha]_D : +11,0^\circ$.

Die Molekülgröße, nach K. H. Meyer¹¹ bestimmt, ergibt ein Molekül aus 124 Hexosen. Die Bestimmung des Verzweigungsgrades nach Potter und Hassid¹² ergab eine Endgruppe auf 2,5 Hexosen; ein Molekül Endopenicillan A enthält somit 48—49 nicht reduzierende Endgruppen. Nach vollständiger Perjodierung¹⁶ erhält man nach anschließender Hydrolyse kein durch Papierchromatographie nachweisbares Saccharid, dies bedeutet, daß, sofern im Molekül die Zucker in Pyranoseform vorliegen, keine 1:3-Bindungen vorhanden sind.

¹⁴ D. J. Manners u. Khin Maung, J. chem. Soc. [London] 1955, 867.

¹⁵ K. J. Meyer, Helv. chim. Acta 32, 757 [1949].

¹⁶ D. J. Bell u. D. J. Manners, J. chem. Soc. [London] 1954, 1891.

Die einzelnen Monosaccharide wurden durch Identifizierungschromatogramme und ihr Verhalten gegen verschiedene Hefen charakterisiert.

Außerdem wurde nach Eluierung der einmalig papierchromatographisch getrennten Zucker orientierend die spezif. Drehung für jeden Zucker gemessen.

Das Verhältnis der einzelnen Monosaccharide nach $4\frac{1}{2}$ stdg. Hydrolyse mit $n/1$ -HCl wurde durch Titration der einzelnen Zuckerablagerungen nach Hagedorn-Jensen ermittelt, derart, daß gleichgroße Papierabschnitte der einzelnen Ablagerungen, herausgenommen aus der Laufrichtung der Chromatogramme, untersucht wurden. Die Werte,

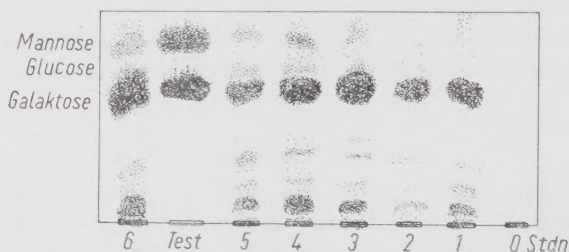


Abb. 4. Papierchromatographische Verfolgung der Hydrolyse von Endopenicillin A mit $n/10$ -HCl, rechts beginnend von 0 bis 6 Stdn. Test: Mannose, Galaktose, je 1-proz. Die abgespaltene Glucose sitzt der Galaktose als deutlich abgrenzbare Kappe auf, erstmalig bei 3 Stdn.

bezogen auf Glucose gleich 1, schwanken für die gefundenen Verhältnisse von Mannose : Glucose : Galaktose zwischen (3,7 bis 4,5) : 1 : (2,4 bis 3,0). Die spezif. Drehung dieses Zuckergemisches, aus den obigen Analysen einzeln berechnet, schwankt maximal zwischen $40,2^\circ$ und $41,8^\circ$. Der nicht zu Monosacchariden aufgespaltene Anteil war phosphathaltig und mit Benzidin nur schwer anfärbbar (vgl. Abb. 9).

Um einen Einblick in die Geschwindigkeit der Bildung der Einzelhexosen zu gewinnen, wurden im Verlauf der Hydrolyse mit $n/10$ -HCl laufend Papierchromatogramme angefertigt. Abb. 4 zeigt die zeitlich unterschiedliche Freisetzung der einzelnen Hexosen.

Die Galaktose ist bereits nach 1 Stde. sehr reichlich vorhanden, während die Glucose und Mannose noch gebunden sind, dies gilt ebenso bis zum Ende der 2. Stde. In den weiteren Stdn. erreicht die Galaktose relativ schnell ihr Maximum.

Die Freisetzung der Glucose und Mannose erfolgt erst von der 3. Stde. ab; man sieht aber, daß die Glucose mit fortschreitender Zeit schneller freigesetzt wird als die Mannose. Dies ist auffällig, weil, wie oben mitgeteilt, im Endzustand der Hydrolyse (in Abb. 4 nicht erreicht) die Mannose die Hauptmenge der Saccharide ausmacht.

Diese Unterschiede in der Hydrolysegeschwindigkeit machen es sehr wahrscheinlich, daß die offensichtlich leicht abspaltbare Galaktose die

Seitenzweige des Moleküls bildet, während die erschwerte Abspaltung der Glucose und Mannose darauf beruht, daß diese Zucker die Hauptkette bilden oder daß eingebaute Phosphorsäure die Abspaltung hemmt. Die Stellung der Glucose ist schwieriger zu ermitteln, sie könnte eventuell in der Hauptkette zu suchen sein; es wäre aber auch sehr wohl möglich, daß sie ebenfalls in Seitenkette sitzt und ihre Freisetzung, ebenso wie die der Mannose, durch die reichlich mit eingebaute Phosphorsäure gehemmt wird¹⁷. Mit großer Wahrscheinlichkeit darf man aber auf Grund der Bildungsgeschwindigkeit annehmen, daß die Mannose die Hauptkette des Polysaccharides aufbaut.

Neben den genannten Monosacchariden treten in den Chromatogrammen noch etwa 5 Oligosaccharide auf. Die starke Ablagerung in der Nähe des Starts, die in der Abb. 4 stets in hoher Konzentration vorliegt, und die sehr langsame Zunahme an freier Mannose im Reaktionsgemisch machen bei gleichzeitiger Berücksichtigung der hohen Konzentration an Mannose im Molekül wahrscheinlich, daß diese Oligosaccharid-ablagerung vorwiegend aus gebundener Mannose besteht. Die Oligosaccharide mit höherem R_F -Wert (wahrscheinlich Disaccharide), die erst nach 3 Stdn. gleichzeitig mit dem Auftreten von Glucose und Mannose sichtbar werden, scheinen mit deren Bildung gekoppelt zu sein. Die Untersuchung der Oligosaccharide auf Phosphor¹⁸ ergibt bei den startnahen eine positive Reaktion, offensichtlich werden die Ester nur sehr langsam gespalten. Für das Vorliegen von Polyphosphorsäure spricht der positive Nachweis mit Toluidinblau¹⁹ in der wäßrigen Lösung des Endopenicillans A.

Beschreibung der Versuche

I. Ausgangspolysaccharid

Darstellung

Verarbeitung des Mycels

6 kg Mycel wurden mit 6 l 20-proz. Kalilauge unter häufigem Umschütteln 20 Stdn. im siedenden Wasserbad erhitzt, das Mycel abzentrifugiert und die Lösung mit 2½ Vol. Alkohol versetzt. Der ausfallende klebrige Niederschlag gab mit Wasser eine trübe Lösung, aus der sich beim Ansäuern mit Salzsäure (kongo) spezif. leichtere Stoffe abschieden, die abfiltriert wurden. Die dann klare, braune, schwach salzsaure Lösung wurde sofort wieder mit Alkohol gefällt und eine zweite saure Umfällung angeschlossen. Bei der nächsten Umfällung, nun aus alkalischer Lösung, ließen sich weitere nach Invertierung nicht reduzierende Begleitstoffe abtrennen.

Reinigung der Polysaccharide und Aufteilung in zwei Fraktionen

Die Rohpolysaccharide wurden in 500 cm Wasser gelöst und mit 50 g Kaliumhydroxyd 3 Stdn. im siedenden Wasserbad erhitzt. Nach längerem Zentrifugieren bei 3000 U/Min. (große Collatz-Zentrifuge) konnte aus der Lösung ein reichlicher brauner Bodenkörper abgetrennt werden, der verworfen wurde. Die Polysaccharide wurden mit 3 Vol. Alkohol niedergeschlagen und zur Entfernung von Hydroxyden

¹⁷ H. Weinland, diese Z. **306**, 56 [1956].

¹⁸ C. S. Hanes u. F. A. Isherwood, Nature [London] **164**, 1107 [1949].

¹⁹ l. c.⁸, S. 514.

und basischen Begleitstoffen 4 mal aus kongosaurer Lösung umgefällt. Die anfänglich tiefbraune wäßrige Polysaccharidlösung wurde hierbei zunehmend heller. Die Säurekonzentration wird möglichst gering gehalten und die Fällungen sehr rasch ausgeführt.

Bei Umfällungen aus saurer Lösung trat während der Zugabe des dreifachen Volumens Alkohol ein grobflockiger Anteil auf, der sich rasch absetzte und über diesem eine milchige Trübung (bei Umfällung aus alkalischer Lösung nicht zu sehen). Der milchige Alkohol wurde jeweils sofort nach der Fällung abgekippt und die aus diesem absinkenden Niederschläge für sich gesammelt. Bei den letzten sauren Umfällungen ließ die Trübung nach, eine ausschließlich grobflockige Fällung mit überstehendem klaren Alkohol war jedoch nicht zu erreichen. Man trennt auf diese Weise aus dem Gesamtpolysaccharid eine äußerst hygroskopische Substanz ab, im ganzen 12,9 g, die später näher untersucht werden soll.

Der grobflockig ausfallende Anteil der sauren Fällungen wurde noch 2mal aus saurer Lösung umgefällt, danach die wäßrige, stark opalescente farblose Lösung 1 Stde. zentrifugiert und hierauf aus Pipette unter Umrühren langsam in das 10-fache Volumen Alkohol gegeben. Der Niederschlag wurde abfiltriert, mit Alkohol-Äther gewaschen und anschließend bei 105° getrocknet. Gesamtmenge 13,2 g „Ausgangspolysaccharid“.

Auftrennung des „Ausgangspolysaccharides“ mittels Kupferlauge

Abtrennung des Glykogengrenz-dextrins: 4 g „Ausgangspolysaccharid“ wurden in 10 ccm Wasser bei 50° gelöst und anschließend in 400 ccm Kupferlauge (500 g KOH + 400 ccm Wasser; 500 ccm dieser Lauge mit 50 ccm gesätt. Kupfersulfatlösung unter Umschütteln versetzt, dann filtriert) gegeben. Die Lösung trübte sich sofort, bei langsamem Erwärmen der Mischung auf 60–70° ging die Trübung in eine flockige, blaue Fällung über, die sich bei weiterem Erhitzen vollständig löste. Die Flocken traten beim Abkühlen der Lösung nicht wieder auf, sondern nur die homogene Trübung wie zu Beginn, auch nochmaliges Erwärmen führte zu keiner flockigen Fällung mehr. Es erwies sich daher als zweckmäßig, langsam zu erwärmen um eine günstige Fällung zu erreichen. Die homogene Trübung konnte jedoch nach dem Abkühlen durch scharfes Zentrifugieren abgetrennt werden.

Die Kupferlauge samt Niederschlag wurde nach Abkühlung auf 5° zentrifugiert, der Niederschlag mit je 50 ccm Kupferlauge aufgeschlämmt und erneut zentrifugiert. Er stellte die Kupferverbindung des Pilzglykogengrenz-dextrins dar.

Die zum Aufschlämmen verwendeten Kupferlauge wurden mit der aus der Darstellung stammenden vereinigt, nochmals kurz auf 80° erwärmt und wieder auf 5° abgekühlt. Die Lösung blieb hierbei völlig klar, so daß angenommen werden konnte, daß die anfänglich verwendete Kupfermenge zur Fällung des Komplexes ausreichend war. Die Lösung wurde bis zu ihrer weiteren Verarbeitung bei 5° aufbewahrt.

Der Kupferpolysaccharidniederschlag wurde, da nur in Säure löslich, in 50 ccm kalter 1-n. Salzsäure gelöst und unter Umrühren rasch in 1 l Alkohol eingegossen. Dabei trat eine hellblaue, flockige Fällung auf, die sich nach einigen Stdn. grünbraun verfärbte. Der überstehende grüne Alkohol enthielt bereits beträchtliche Mengen Kupfersalze. Der Niederschlag wurde nach mehreren Stdn. bei 5° abzentrifugiert, erneut in 50 ccm 1-n. HCl gelöst und ergab bei Eingießen in 800 ccm Alkohol eine weiße, grobflockige Fällung, wobei der Alkohol sich schwach grün färbte. Um alles Kupfer zu entfernen, mußte noch einige Male umgefällt werden. Je kupferärmer der Niederschlag, desto wasserlöslicher wurde er, so daß immer geringere Säurekonzentrationen zum Erreichen einer klaren Lösung notwendig waren. Nach der 7. Fällung löste sich das Polysaccharid in reinem Wasser. Es war dann bereits so rein, daß es erst nach Zufügen von 1 Tropfen konz. NaCl-Lösung ausfiel. Die letzte Fällung geschah aus neutraler Lösung. Der Niederschlag wurde abgesaugt, mit Alkohol-Äther gewaschen und im Vakuumtrockenschrank bei 40° über CaCl₂ getrocknet. Ausb. 1,5 g Pilzglykogengrenz-dextrin.

Die überstehende Kupferlauge (450 ccm) wurde unter Umrühren in 2 l Alkohol gegossen. Es fiel eine blaue, später in grüngrau übergehende schmierige Masse aus. Nach mehrstündigem Stehenlassen bei 5° wurde der Niederschlag abzentrifugiert, in 50 ccm kalter 2-n. HCl gelöst und rasch unter Umrühren in 1 l Alkohol gegossen, wobei eine hellgrüne, flockige Fällung eintrat. Es wurde noch 8mal aus 1-n. salzsaurer Lösung umgefällt, bis der überstehende Alkohol farblos und der Niederschlag wasserlöslich geworden war. Er wurde in 10 ccm Wasser aufgenommen, aus der trüben Lösung ein geringer dunkel gefärbter Bodensatz abzentrifugiert und mit dem 10fachen Volumen Alkohol unter Zusatz von 1 Tropfen NaCl-Lösung gefällt. Die weiße, flockige Fällung wurde abgesaugt, mit Alkohol-Äther gewaschen, im Vakuumtrockenschrank bei 40° über CaCl_2 getrocknet. Ausbeute: 0,75 g Endopenicillan A. Bei den Alkoholfällungen geht von beiden Polysacchariden wahrscheinlich auf Grund ihrer geringen Molekülgröße ziemlich viel verloren.

II. Pilzglykogensgrendextrin

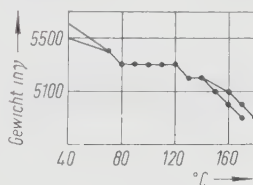
A. Allgemeine Untersuchung

Lösung 1: Etwa 0,4 g der über CaCl_2 getrockneten Substanz wurden in einem 10-cm-Meßkölbchen gelöst und die Lösung zur Marke aufgefüllt.

Lösung 2: Lösung 1 wurde 1:12,5 verdünnt.

Trockengewicht und Zersetzungstemperatur: 2 ccm von Lösung 2 wurden im Platintiegel bei 40° i. Vak. zur Trockne gedampft und anschließend die Gewichtsabnahme bei steigender Temperatur verfolgt. Abb. 5 zeigt, daß die Sub-

Abb. 5. Trockengewichtskurve des Pilzglykogensgrendextrins.



stanz sich von 120° ab zersetzt. In 2 ccm wurde ein Trockenrückstand von 5,3 mg gefunden; Lösg. 1 enthielt daher 0,3315 g/10 ccm. Die Veraschung ergab keinen wägbaren Rückstand.

Optische Drehung: + 5,44° ($\pm 0,03^\circ$) im 10-cm-Halbmikrorohr, $[\alpha]_D^{20}$ + 164,3°

Phosphorsäurebestimmung: Je 5 ccm Lösg. 2 wurden in Kjeldahl-Kolben zur Trockne verdampft und darin nach Hahn²⁰, modifiziert für Mengen von 1–40 μP^{21} , die Phosphorsäure bestimmt. Nach der nassen Veraschung wurde auf 50 ccm aufgefüllt und jeweils 10 ccm zur Molybdänblaureaktion verwendet. Messung in 5-cm-Küvette mit Filter S. 72.

Gef. P. 0,81%

Kupferbestimmung: Die Bestimmung nach Eden und Green²² (s. S. 237) verlief negativ.

Hydrolyse: 3 ccm der 1:2 verdünnten Lösg. 1 wurden im 5-cm-Meßkölbchen i. Vak. zur Trockne gebracht; darauf wurde mit 2 ccm n-HCl versetzt, 2 Stdn. im siedenden Wasserbad invertiert, mit 2-n. NaOH neutralisiert und zur Marke aufgefüllt (Verdünnung 1:3,3).

²⁰ F. Hahn, Angew. Chem. **60**, 207 [1948].

²¹ H. Weinland, diese Z. **305**, 219 [1956].

²² A. Eden u. H. H. Green, Biochem. J. **34**, 1202 [1940].

Analyse der hydrolysierten Substanz

Optische Drehung: $+0,52^{\circ} (\pm 0,01^{\circ})$ im 10-cm-Halbmikrorohr, $[\alpha]_D$: $+62,61^{\circ}$ (siehe Tab. 2)

Zu den Reduktionsbestimmungen nach Macleod und Robison²³ sowie nach Fehling-Lehmann-Schoorl²⁴ wurden 4 ccm des Hydrolysats auf 50 ccm (Verdünnung 1:12,5), für die Bestimmung nach Hagedorn-Jensen²⁵ die letztgenannte Lösung nochmals auf das zehnfache verdünnt (s. Tab. 2).

Tab. 2. Analysenergebnisse der invertierten Lösung.

	ccm analysierte Lösg.	Gehalt, auf Glucose berechnet	in Lösg. 1 % Glucose	$[\alpha]_D$
Macleod-Robison	1 bzw. 2	666 bzw. 1355 γ	2,80	+ 62,61° ber. mit Hilfe des Mittelwerts der gefundenen Glucosewerte
Fehling-Lehmann-Schoorl	10 bzw. 20	6,45 bzw. 13,23 mg	2,74	
Hagedorn-Jensen	2	129 $\gamma \pm 0,0 \gamma$	2,69	

Aus dem Trockengewichtsgehalt der Lösung 1 und dem Ergebnis der Reduktionsanalysen ergibt sich eine Aufspaltung des Pilzglykogengrenzdextrins in nachweisbare Aldehydgruppen zu 74%.

Glucosenachweis: Der Rest des Hydrolysates wurde papierchromatographisch aufgetrennt (Butanol-Eisessig-Wasser 4:1:5), die Glucosefraktion eluiert und nach Einengen i. Vak. auf 5 ccm aufgefüllt. Optische Drehung: $+0,35^{\circ} (\pm 0,01^{\circ})$ im 20-cm-Halbmikrorohr, $[\alpha]_D$: $+46,7^{\circ}$ (s. Tab. 3).

Zu den Reduktionsbestimmungen nach Macleod-Robison wurden 4 ccm auf 50 ccm aufgefüllt (Verdünnung 1:12,5), für die Bestimmung nach Hagedorn-Jensen 3 ccm der letztgenannten Lösg. auf 10 ccm (Verdünnung 1:41,7).

Tab. 3. Analysenergebnisse für isolierte Glucose.

	ccm analysierte Lösg.	Gehalt an Glucose	% Glucose	$[\alpha]_D$
Macleod-Robison	4 bzw. 5	1,16 bzw. 1,44 mg	0,36	+ 46,7° ber. mit Hilfe des Mittelwertes
Hagedorn-Jensen	2	184 $\gamma \pm 2 \gamma$	0,38	

Der Zucker ist im Identifizierungschromatogramm mit Glucose identisch. Bei Vergärung auf Papier mit 20-proz. Backerhefe²⁶ ist nach 30 Min. kein benzidinanfärbbarer Rest mehr nachweisbar.

Zeitliche Abspaltung der Phosphorsäure

Von der 1:1 verdünnten Lösg. 1 wurden

a) 0,6 ccm (9,95 mg) i. Vak. zur Trockne gedampft, in 0,4 ccm 1-n. HCl gelöst, 1½ Stdn. im siedenden Wasserbad hydrolysiert, neutralisiert und für die

²³ M. Macleod u. R. Robison, *Biochem. J.* **23**, 517 [1929].

²⁴ A. W. van der Haar, Anleitung zum Nachweis, zur Trennung und Bestimmung d. Monosaccharide u. Aldehydsäuren, Gebr. Borntraeger, Berlin 1920, S. 121.

²⁵ K. Hinsberg u. K. Lang, l. c.⁶, S. 200.

²⁶ F. May u. H. Weinland, diese Z. **293**, 153 [1953].

Bestimmung des abgespaltenen Phosphors nach Hahn^{20,21} die entspr. Menge neutralisierte Schwefelsäure zugesetzt, auf 10 cem aufgefüllt und die 10 cem zur Molybdänblaureaktion verwendet.

b) 3,0 cem (49,73 mg) i. Vak. zur Trockne gedampft, in 2 cem 1-n. HCl gelöst, im siedenden Wasserbad 2½ Stdn. hydrolysiert, neutralisiert, auf 5 cem aufgefüllt und 0,55 cem (5,47 mg) wie unter a) zur Bestimmung des abgespaltenen Phosphors verwendet (s. Tab. 4).

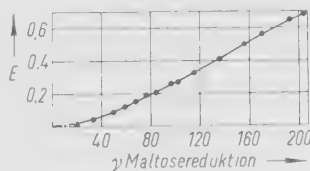
Tab. 4. Phosphorabspaltung bei Hydrolyse in 1-n. HCl.

Zeit Stdn.	abgespaltenen P in der Analyse	in der Analyse Gesamt-Phosphor (freier u. gebundener)	abgespalten % des P
1½	11 γ	79 γ	13,8
2½	11 γ	44 γ	25,0

B. Molekülgrößenbestimmung nach K. H. Meyer¹¹

Die Methode wurde für kleine Polysaccharidmengen wie folgt abgewandelt: Im Mikroeagenzglas werden 0,2 cem Saccharidlösung mit 0,1 cem 6-n. NaOH und 0,1 cem 1,5-proz. wäßriger 3,5-Dinitro-salicylsäure versetzt, für 30 Min. in ein Wasserbad von 65° gebracht und anschließend unter der Wasserleitung gekühlt. Die Messung der Extinktion erfolgt gegen entspr. gewonnene Leerwerte am Pulfrich-Photometer in 2-cm-Mikroküvette, Filter S 53. Die so erhaltene Eichkurve für 20–200 γ Maltosereduktion zeigt Abb. 6.

Abb. 6. Eichkurve für Maltosereduktion von 20–200 γ mit 3,5-Dinitro-salicylsäure.



Tab. 5. Analysenergebnisse für Molekülgrößenbestimmung des Pilzglykogensgrenzdextrins.

Einwaage mg	gelöst ad cem	cem analysierte Lösung	gefundene „Maltosereduktion“	Glucosen pro Molekül
1,1	0,2	0,2	32 γ ± 2 γ	68,8 ± 3
37,7	1,5	0,1	72 γ ± 2 γ	69,0 ± 2
		0,2	144 γ ± 2 γ	69,0 ± 2

C. Bestimmung der nichtreduzierenden Enden im Molekül nach Potter und Hassid¹²

Wegen der Kleinheit des vorliegenden Moleküls erfolgte die Berechnung der Anzahl nicht reduzierender Enden in Tab. 6 unter Berücksichtigung der 2 Moll. Ameisensäuren pro freie Aldehydgruppe.

Tab. 6. Analysenergebnisse der Endgruppenbestimmung.

Einwaage in 20 ccm Reak- tionsgemisch g	ccm analysierte Lösung (je 3 Bestim- mungen)	Gehalt an $n/100$ - Ameisensäure nach Abzug d. Leerwerts (Mittelw.) ccm	Mol Ameisensäure pro Mol Pilz- glykogengrenz- dextrin	nicht reduz. Enden pro Mole- kül
0,1005	5	2,20	9,80	7,8
0,0447	5	0,99	9,88	7,8

D. Spaltbarkeit mit β -Amylase

β -Amylaselösg.: 100 g Gerstenschrot wurden nach Myrbäck und Örtenblad²⁷ mit 400 ccm Wasser 30 Min. bei 20° extrahiert, filtriert, das Filtrat mit 40 ccm 1-n. Essigsäure versetzt (p_H 3,7) 10 Stdn. bei 0° C aufbewahrt²⁸, danach filtriert, neutralisiert, das Ferment mit 2 Vol. Alkohol gefällt²⁷, sofort zentrifugiert, in 50 ccm Wasser gelöst und bei 0° aufbewahrt.

Leberglykogen- bzw. Pilzglykogengrenz-dextrinlösg.: je 20,7 mg gelöst in 1 ccm Wasser.

Bebrütungen: je 0,1 ccm der verschiedenen Glykogenlösungen + 0,1 ccm Wasser + 0,2 ccm β -Amylaselösg., jeweils 8 Ansätze, Temp. 37°, Dauer 0—4 Stdn.

Die Lösungen wurden mit $CdSO_4$ enteiweißt, auf 25 ccm aufgefüllt und je zweimal 10 ccm nach Hagedorn-Jensen titriert. Ergebnisse s. Tab. 1.

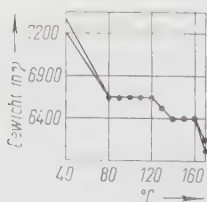
III. Endopenicillan A

A. Allgemeine Untersuchung

Lösung 1: Etwa 0,4 g der über $CaCl_2$ getrockneten Substanz wurden in einem 10-ccm-Meßkölbchen gelöst und die Lösung zur Marke aufgefüllt.

Lösung 2: Lösung 1 wurde 1:25 verdünnt.

Trockengewicht, Zersetzungstemperatur und Asche: 5 ccm von Lösung 2 wurden im Platintiegel bei 40° i. Vak. zur Trockene gedampft und anschließend die Gewichtsabnahme bei steigender Temperatur verfolgt. Abb. 7 zeigt, daß die Substanz sich von 120° ab zersetzt. In 5 ccm wurde ein Trockenrückstand von 6,6 mg gefunden. Die Veraschung ergab 0,9 mg, entspr. 13,6% Asche.

Abb. 7. Trockengewichtskurve
des Endopenicillans A.

Lösung 1 enthielt daher: aschehaltig 0,330 g/10 ccm
aschefrei 0,285 g/10 ccm

Optische Drehung: + 0,31° ($\pm 0,01^\circ$) im 10-cm-Halbmikrorohr,
[α]_D: + 9,5°, bezogen auf aschehaltige Substanz,
+ 11,0°, bezogen auf aschefreie Substanz.

Phosphorsäurebestimmung: Je 2 ccm Lösung 2 wurden in Kjeldahl-Kolben zur Trockne gedampft und wie S. 233 die Phosphorsäure bestimmt.

Gef. P. 4,26%

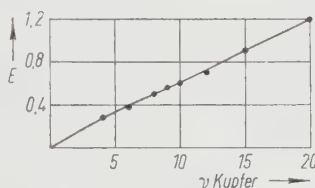
²⁷ K. Myrbäck u. B. Örtenblad, Biochem. Z. **293**, 107 [1937].

²⁸ l. c. 7, S. 1848.

Kupferbestimmung: Je 2 ccm Lösung 2 wurden in Kjeldahlkolben zur Trockne gedampft und das Kupfer kolorimetrisch mit Diäthylthiocarbamat²² bestimmt unter Verwendung des Pulfrich-Photometers mit Filter S 50 und 5-cm-Mikroküvette. Die für die Messungen aufgestellte Eichkurve von 1 γ –20 γ Kupfer zeigt Abb. 8.

Gef. Cu 0,49%

Abb. 8. Eichkurve für 0–20 γ Kupfer (Kupfer(II)-diäthylthiocarbamat-Komplex).



Hydrolyse: 3 ccm der 1:1,67 verdünnten Lösung 1 wurden i. Vak. zur Trockne gedampft. Darauf wurde mit 3 ccm 1-n. HCl versetzt, 2½ Std. im kochenden Wasserbad invertiert, mit 2-n. NaOH neutralisiert und zur Marke aufgefüllt (Verdünnung 1:2,78).

Analyse der hydrolysierten Substanz

a) Optische Drehung: + 0,43° ($\pm 0,02^\circ$) im 10-cm-Halbmikrorohr

$[\alpha]_D$: + 55,6°, bezogen auf Reduktion (s. Tab. 7),
+ 43,0°, bezogen auf aschefreie Substanz.

b) Zu den Reduktionsbestimmungen nach Macleod-Robison²³ sowie nach Fehling-Lehmann-Schoorl²⁴ wurden 4 ccm des Hydrolysates auf 50 ccm, für die Bestimmung nach Hagedorn-Jensen²⁵ die letztgenannte Lösung nochmals auf das 10-fache verdünnt, siehe Tab. 7.

Tab. 7. Analysenergebnisse der invertierten Lösung.

	ccm analysierte Lösg.	Gehalt, auf Glucose berechnet	i. Lösg. 1 % „Glucose“	$[\alpha]_D$
Macleod-Robison	1 bzw. 2	0,653 bzw. 1,287mg	2,24	+ 55,6° berechnet mit Hilfe d. Mittelwerte der Glucosewerte
Fehling-Lehmann-Schoorl	10	6,27 mg	2,16	
Hagedorn-Jensen	1 bzw. 2	116 γ bzw. 241 γ	2,07	

Aus dem Trockengewicht der Lösung 1 und den Reduktionsanalysen ergibt sich eine Aufspaltung des Endopenicillans A zu 68,3%.

c) Nachweis der einzelnen Monosaccharide: der Rest des Hydrolysates wurde wie S. 234 papierchromatographisch aufgetrennt, anschließend die Galaktose-, Glucose- und Mannosefraktion je für sich eluiert und nach Einengen i. Vak. im Meßkölbchen auf 1,5 ccm aufgefüllt. Die Ergebnisse der näheren Untersuchung der einzelnen Fraktionen zeigt Tab. 8.

Die Galaktosefraktion enthält offensichtlich noch Spuren der höher wandernden niedrig drehenden beiden anderen Zucker.

Tab. 8. Eigenschaften der isolierten Monosaccharidfraktionen.

	opt. Drehung 10-cm-Rohr	Konz. nach Hagedorn- Jensen	[α] _D	R _F -Wert identisch mit	Verhalten auf Papier gegen	
					Bäcker- hefe	Galakt. Hefe ²⁶
Galaktose- fraktion	+ 0,41° ± 0,02°	0,60%*	+ 68,3°	Galaktose	keine Gärung	nach 60 Min. vergoren
Glucose- fraktion	—	—	—	Glucose	nach 40 Min. vergoren	—
Mannose- fraktion	+ 0,04° ± 0,01°	0,32%	+ 12,9°	Mannose	nach 60 Min. vergoren	—

* titriert nach der für Galaktose abgewandelten Hagedorn-Jensen-Methode von Larsson und Sveinsson²⁹.

B. Mengenverhältnis der einzelnen Zucker

1 ccm Lösung 1 wurde i. Vak. zur Trockne gedampft, danach mit 1 ccm 1-n. HCl versetzt, 4½ Stdn. im siedenden Wasserbad hydrolysiert, dann sauer auf 2 Chromatographiepapierbogen aufgetragen und unter Einschaltung von Zwischentrocknungen³⁰ in Butanol-Eisessig-Wasser 4:1:5 chromatographiert, Trenneffekt siehe Abb. 9.

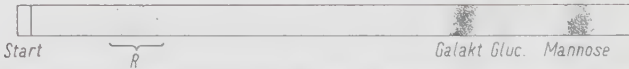


Abb. 9. Absteigendes Chromatogramm der 4½-Stdn.-Hydrolyse mit 1-n. HCl, hergestellt über Zwischentrocknungen.

R = nicht zu Monosaccharid aufgespaltener Rest.

Die Chromatogramme wurden nach Lokalisation der Monosaccharidfraktionen in Laufrichtung in 3-cm-breite Streifen zerschnitten, aus diesen die am breitesten abgelagerte Mannosazone in knapper Begrenzung ausgeschnitten und anschließend

Tab. 9. Mengenverhältnis der einzelnen Zucker.

Nr.	Papierfläche qcm je Ab- lagerung	Leerwert Mittel aus- gedrückt in		Im Chromatogramm ab- gelagert (nach Abzug des Leerwertes)			Verhältnis der 3 Zucker (Glucose jeweils gleich 1 gesetzt)		
		Glucose	Galaktose	Man- nose	Glucose	Galak- tose	Man- nose	Glucose	Galak- tose
		γ	γ	γ	γ	γ			
1	9	65	86	186	41	125	4,50	: 1	: 3,05
2	9	59	78	253	60	167	4,21	: 1	: 2,78
3	6	42	57	222	59	139	3,76	: 1	: 2,36
4	6	44	59	215	58	137	3,70	: 1	: 2,36
5	7,5	68	91	244	57	153	4,28	: 1	: 2,68
6	7,5	63	83	229	54	142	4,2	: 1	: 2,63
7	6	56	75	135	36	86	3,75	: 1	: 2,46
8	9	56	75	229	55	142	4,16	: 1	: 2,58

²⁹ P. A. Larsson u. S. L. Sveinsson, Skand. Arch. Physiol. **83**, 58 [1939].

³⁰ Allene Jeanes, C. S. Wise u. R. J. Dimler, Analytic. Chem. **23**, 415 [1951].

die schmäler abgelagerten Zonen der Glucose und Galaktose durch Mitnahme leerer Nachbarbezirke als ebenso große Flächen. Als Papierleerwerte dienten ebenso große Flächen aus dem ablagerungsfreien startfernen Teil der Streifen. Die Papiere wurden zerkleinert, mit 15 ccm Wasser im siedenden Wasserbad 20 Min. extrahiert, abgekühlt und, ohne die Cellulose zu entfernen, die Hagedorn-Jensenbestimmung angeschlossen, wobei 25 Min. gekocht wurde.

C. Zeitliche Reihenfolge der Abspaltung der einzelnen Monosaccharide

Hydrolyse: 0,4 ccm Lösung 1 wurden i. Vak. zur Trockne gedampft, anschließend mit 0,8 ccm $n/10$ -HCl versetzt und im siedenden Wasserbad 6 Stdn., also unvollständig, hydrolysiert. Alle 60 Min. wurden Proben von etwa 10 cmm entnommen, sauer auf Chromatographiepapier aufgetragen und wie S. 234 chromatographiert.

D. Molekülgrößenbestimmung nach K. H. Meyer¹¹

Tab. 10. Analysenergebnisse für Molekülgröße des Endopenicillans A.

Einwaage für Einzel- messungen mg	entspr. aschefreier Substanz mg	gefunden „Maltose- reduktion“	Hexosen pro Molekül
7,5	6,5	105 γ	124
7,5	6,5	105 γ	124
8,0	6,9	111 γ	124

E. Bestimmung der nichtreduzierenden Enden pro Molekül nach Potter und Hassid¹²

Tab. 11. Analysenergebnisse der Endgruppenbestimmung.

In 20 ccm Reaktions- gemisch		in 5 ccm ana- lysiert. Lösg. aschefreie Sub- stanz	Gehalt an $n/100$ - Ameisensäure nach Abzug des Leerwertes (Mittelwerte) ccm	Mol Ameisen- säure pro Mol Endopeni- cillan A	nicht red. Enden pro Mol.*
Einwaage	aschefreie Substanz				
45,4 mg	39,2 mg	9,8 mg	2,45	50,2	48,2
15,3 mg	13,2 mg	3,3 mg	0,81	49,3	47,3

* Unter Berücksichtigung der 2 Ameisensäuren pro freie Aldehydgruppe.

F. Untersuchung auf 1-3-glykosidische Bindungen im Molekül nach Bell und Manners¹⁶

30, 40 und 50 mg Endopenicillan A wurden im Schliffstopfen-Erlenmeyer mit je 40 ccm 8-proz. Natriummetaperjodatlösung versetzt und 50 Tage bei Zimmertemperatur im diffusen Tageslicht stehen gelassen. Danach wurde mit 5 ccm Äthylenglykol der Überschuß an Perjodat zerstört, die Jodationen mit Silbernitrat entfernt und die restlichen Ag-Ionen mit H_2S ausgefällt. Die filtrierten Lösungen wurden i. Vak. bei Zimmertemperatur auf 2 ccm eingeeengt, mit 2 ccm 2-n. HCl versetzt und $2\frac{1}{2}$ Stdn. im siedenden Wasserbad hydrolysiert. Anschließend wurde neutralisiert, die Lösung i. Vak. eingeeengt und papierchromatographisch auf Zucker untersucht. Es zeigten sich keine durch Benzidin anfärbbaren Substanzen mehr.

IV. Mengenverhältnis der beiden Polysaccharide

Etwa 250 mg „Ausgangspolysaccharid“ wurden in 4 ccm Wasser gelöst, zentrifugiert und im 5-ccm-Meßkölbchen zur Marke aufgefüllt.

Trockengewicht: 2 ccm der Lösung ergaben bei 110° ein Trockengewicht von 99,2 mg. Die Veraschung ergab einen Rückstand von 29,9 mg, entspr. 30,15% Asche. Die Lösung enthält daher aschefrei 0,173 g/5 ccm.

Optische Drehung: $+ 3,51^\circ (\pm 0,02^\circ)$ im 10-cm-Halbmikrorohr,

$[\alpha]_D : + 101,2^\circ$ für aschefreie Substanz.

Mit Hilfe der $[\alpha]_D$ -Werte der beiden aschefreien Komponenten errechnet sich hieraus ein Verhältnis von

Endopenicillan A: Pilzglykogensgrenzdextrin wie 1:1,4.

Herrn Professor May danke ich für die Stellung des Themas und die Überlassung der isolierten Polysaccharide. Frau Privatdozent Dr. Weinland danke ich für das große Interesse an meiner Arbeit und für die vielen freundlichen Hinweise bei der Untersuchung.

Zusammenfassung

Im Mycel eines *Penicillium*stammes wurden zwei intrazelluläre Polysaccharide aufgefunden:

1. Ein Glucosepolysaccharid vom Charakter eines Glykogensgrenzdextrins, d. h. mit kurzen Seitenzweigen, geeignet für Zusammenlagerung zu größeren Komplexen für Glykogenteile mit 1:6-Bindungen.

2. Ein als Endopenicillan A bezeichnetes Saccharid. Es besteht aus 124 Hexosen (Mannose, Galaktose und Glucose). Aus der Abspaltung der Zucker bei der Säurehydrolyse können mit Wahrscheinlichkeit Rückschlüsse auf die Verteilung der einzelnen Monosaccharide im Molekül gezogen werden.

Summary

Two intracellular polysaccharides, viz. a glucose polysaccharide and a saccharide designated as endopenicillan A, have been detected in the mycelium of a *Penicillium* strain. The glucose polysaccharide has the nature of a limit dextrin from glycogen, i. e. with short branches, and is capable of coupling to form glycogen units with 1.6-linkages. Endopenicillan A consists of 124 hexose units and contains mannose, galactose and glucose. The results of acid hydrolysis provide information concerning the distribution of the individual monosaccharides in the molecule.

Lebenslauf

Am 24. IV. 1929 wurde ich, Erika Eckart, als Tochter des Apothekers Dr. Ernst Eckart und seiner Ehefrau Trude, geb. Maisch zu Nürnberg geboren. Ich besuchte vom Frühjahr 1935 bis 1939 die Wilhelm Löhe Schule in Nürnberg und trat dann an die Oberrealschule für Mädchen an der Labenwolffstraße über, die ich, unterbrochen durch Kriegseinwirkung in der Zeit vom Frühjahr 1945 bis Frühjahr 1946, in der ich als Laborantin tätig gewesen bin, bis zum Abitur im Juli 1948 besuchte. Vom September 1948 bis September 1950 war ich als Apothekerpraktikantin im ersten Jahr in der Apotheke des Städtischen Krankenhauses Nürnberg, im zweiten Jahr in der Sonnenapotheke in Fürth tätig. Nach Ablegung des Vorexamens begann ich im Wintersemester 50/51 das Pharmaziestudium an der Universität Erlangen. Dieses beendete ich im Sommersemester 53 mit dem Pharmazeutischen Staatsexamen. Ab Wintersemester 53/54 arbeitete ich am Physiologisch-chemischen Institut der Universität Erlangen als Volontärassistentin und immatrikulierte mich gleichzeitig für das Medizinstudium. Im Oktober 1955 legte ich das Physikum ab.

Erlangen, den 15. Oktober 1956

